

THESIS

TÜBINGEN

1967

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Entwicklung eines einfachen Gerätes
zur
biologischen Autoklavenprüfung

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt

von

DIETER KEIL

aus Esslingen

1967

8812

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Entwicklung eines einfachen Gerätes
zur
biologischen Autoklavenprüfung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von
DIETER KEIL
aus Esslingen

1967

Dekan: Professor Dr. med. W. Schneider

Berichterstatter: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Meiner Mutter

I. Einleitung

II. Die Entwicklung der Sprache

1. Die Sprache

2. Die Entwicklung der Sprache

3. Die Entwicklung der Sprache

III. Die Sprache

IV. Die Sprache

V. Die Sprache

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Eigene Untersuchungen und Ergebnisse</u>	11
A. Material	11
B. Methoden und Ergebnisse	12
C. Entwicklung eines Gerätes	22
III. <u>Diskussion</u>	28
IV. <u>Zusammenfassung</u>	29
V. <u>Literatur</u>	30



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Wenn an einem Kleid ein Aussatzmal sein wird, es sei wollen oder leinen, am Aufzug oder am Eintrag, es sei leinen oder wollen, oder an einem Fell oder an allem, was aus Fellen gemacht wird,

und wenn das Mal grünlich oder rötlich ist am Kleid oder am Fell oder am Aufzug oder am Eintrag oder an irgend einem Ding, das von Fellen gemacht ist, das ist gewiß ein Mal des Aussatzes, darum soll's der Priester besehen.

Und wenn er das Mal sieht, soll er's einschließen sieben Tage.

Und wenn er am siebenten Tage sieht, daß das Mal hat weitergefressen am Kleid, am Aufzug oder am Eintrag, am Fell oder an allem, was man aus Fellen macht, so ist das Mal ein fressender Aussatz, und es ist unrein.

Und man soll das Kleid verbrennen oder den Aufzug oder den Eintrag, es sei wollen oder leinen oder allerlei Fellwerk, darin solch Mal ist; denn es ist fressender Aussatz, und man soll es mit Feuer verbrennen.

(3. Mose 13, 47 - 52)

I. Einleitung

"Die ursprüngliche Lehre von der miasmatischen Natur der Infektionsstoffe führte zwangsläufig zu Gegenmaßnahmen, bei denen Räucherungen mit angenehm oder scharf riechenden Stoffen oder Einreibungen mit Essenzen das krankmachende Agens vertreiben oder vernichten sollten. Seltsam muten heute die meisten dieser Handlungen an, weil sie, unter der Geißel der Seuchen und in Unkenntnis der Zusammenhänge entstanden, nicht mehr sein konnten als ein Tasten im Dunkeln. Dies traf zwar manchmal das Richtige, wie die Verbrennung von allerlei Gegen-

ständen nach Seuchenausbrüchen und im weiteren Sinne auch die Quarantänemaßnahmen. Meist waren diese Versuche jedoch unnütz, manchmal sogar schädlich " (R o d e n w a l d t - B a d e r , 1951). Zwar stammt schon von Aristoteles die Forderung an das Heer Alexanders des Großen, Trinkwasser abzukochen, und L. Spallanzani (1729 - 1799) konnte als erster die Urzeugung (Abiogenesis, Generatio aequivoca) widerlegen, indem er nach Erhitzen des Inhalts von Aufgußgläsern zeigte, daß die Entwicklung der "Infusorien", die als Beweis für die Entstehung von Leben aus unbelebter Materie angesehen wurde, ausblieb. Entscheidend verbessert und wissenschaftlich ausgewertet werden konnten die, zum Teil dem mantisch - theurgischen Formenkreis erwachsenen, jahrtausendealten Ge- und Verbote jedoch erst, als eine exakt betriebene Mikrobiologie die Zusammenhänge zwischen Infektionskrankheiten und Mikrobentätigkeit aufgedeckt hatte. Louis Pasteur und Robert Koch, die den Grundstein zu dem neuen Wissenschaftszweig gelegt hatten, gaben damit auch gleichzeitig den Anstoß zur Erforschung der Vernichtung von Mikroorganismen. Die steigende Welle der Entdeckungen förderte nicht zuletzt die Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Kleinlebewesen und die verschiedenen Anwendungsformen der Wärme zu ihrer Abtötung. Man baute zu diesem Zweck geeignete Apparaturen und konnte durch ständige Verbesserungen ihren routinemäßigen Einsatz erwirken. " An die Stelle der Empirie und des Probierens trat das exakte Experiment " (K o n r i c h - S t u t z , 1963).

Der Verhütung von Sekundärinfektionen durch ärztliche Geräte und Lösungen gilt heute eine der hauptsächlichen Anwendungen der Keimvernichtung durch Wärme. Die Desinfektion infizierter Materialien oder ihre Nutzbarmachung bei der Entkeimung von Nährböden und Geräten in der mikrobiologischen Technik stehen in ihrem Aufgabenbereich an Bedeutung kaum nach. Schließlich verdient ihre Notwendigkeit bei der im Zuge der Schnellebigkeit unserer

Tage in jäh aufstrebender Entwicklung begriffenen Konservenindustrie, welche sich der Keimvernichtung durch Wärme zur Haltbarmachung von Nahrungsmitteln und Getränken in großem Ausmaß bedient, mehr als der einfachen Erwähnung (K o n r i c h - S t u t z , 1963).

Neben der Wärme ist auch die Wirksamkeit anderer Verfahren geprüft worden. So etwa der keimvernichtende Effekt von ultravioletten Strahlen (D u g g a r und H o l l a e n d e r , 1934; R e n t s c h l e r , N a g y und M o u r o m s e f f , 1941; L u c k i e s h und K n o w l e s , 1948; G ä r t n e r , 1948, S c h m i d t , M ö l l e r und T h i e l e , 1954), jonisierenden Strahlen (W o e s e , 1959), und Röntgenstrahlen (G r a i n g e r , 1947; G u n t e r und K o h n , 1956). Filtermethoden, die Anwendung von ultravioletten Strahlen, Röntgenstrahlen, radioaktiven Substanzen oder schnellen Elektronen (P e t e r , 1962), Chemikalien, wie zum Beispiel Chlor und in neuerer Zeit primärer Alkylhalogenide (H a r m s e n und O s t e r t a g , 1950/51), oder Äthylenoxyd (T h o n und N e u m a n n , 1959; L a m m e r s , D a y , K ö r n l e i n und S e i b e l , 1959/60; H e i c k e n und B e l l i n g e r , 1960), um nur einige zu nennen, haben ihre Bedeutung als Verfahren der Kaltsterilisation bei der Entkeimung von Gegenständen, die eine zur Keimtötung notwendige Erwärmung nicht ohne Denaturierung überstehen, und verdrängen dabei die Keimvernichtung durch Wärme, trotz deren Nachteile, keineswegs aus ihrer dominierenden Position.

Bei der Keimabtötung durch Wärme stehen uns nun mehrere Anwendungsformen zur Wahl, von denen sich das Sterilisationsverfahren mit Hilfe des gespannten Dampfes durch schnellste Entfaltung der Wirksamkeit und größte Tiefenwirkung auszeichnet (G l o b i g , 1888; S a l o m o n s e n und L e v i s o n , 1888; R u b n e r , 1898 und 1899). Die jeweils zur Anwendung gelangende Methode hängt ganz von der Empfindlichkeit der abzutötenden Keime ab und damit zwangsläufig vom Ziel der Keimvernichtung.

Da nun eben diese Ziele bei den möglichen Verfahren sehr unterschiedlichen Anforderungen genügen, war es nötig, eine Systematik der verschiedenen Resistenzgrade zu schaffen, die zum Ergebnis vier Resistenzstufen hat (S t u t z, 1963). Der Anwendungsbereich der beiden letzten dieser Resistenzstufen liegt in den Verfahren der Sterilisation. Sie werden, wie die übrigen, in bewährter Weise durch entsprechende Prüfkeime bestimmt (K o n r i c h - S t u t z, 1963). Die nativen Erdsporen sind die Testkeime der Resistenzstufe III. Diese Sporen befinden sich in ihrem natürlichen Lebensmilieu, ihrem entsprechenden Biotop, der gedüngten Gartenerde. Schon vor der Jahrhundertwende war ihre Anwendung bei Sterilisier- und Desinfektionsversuchen bekannt (K o c h, G a f f k y und L o e f f l e r, 1881), und B i s c h o f f und W i n t g e n (1900) beschrieben ihre besondere Berücksichtigung bei der Konservenherstellung. Die Testobjekte werden zweckmäßigerweise aus Komposterde angefertigt, welche getrocknet und zur gleichmäßigen Aufteilung durch ein Sieb ausgeschüttelt, als Portionen von etwa 0,3 - 1,0 g , oder allgemein ein Stuhlöffelchen voll, in Päckchen von doppeltem Fließpapier zur Anwendung gelangen.

Auf die genaue Menge der Sporenerde kommt es jedoch nicht so sehr an, wie auf die Forderung, daß in der jeweiligen Portion tatsächlich hochresistente Sporen vorhanden sind (K o n r i c h - S t u t z, 1963), welche in einer Resistenz gegen eine 20 - stündige Behandlung mit strömendem Dampf von 100°C als gegeben angesehen werden kann. Diese Sporenerde wird heute benutzt (A d a m, 1962).

Als Repräsentanten der Resistenzstufe IV gelten Keime, deren Sporen eine wesentlich größere Widerstandsfähigkeit gegenüber Hitze aufweisen, als diejenigen der Resistenzstufe III, in kochendem Wasser oder strömendem Dampf nicht abgetötet werden und auch gegenüber gespanntem Dampf eine überaus hohe Resistenz aufweisen (G e l i n s k y und

L o c k e m a n n, 1950/51; K u r z w e i l, 1943 und 1954; D o b b e r s t e i n, 1957). G l o b i g (1888) fand diese hochresistenten Keime in Kompost- und Garten-erde, während R a b i n o w i t s c h (1895) ihr Vorkommen in Fäkalien von Vögeln und Säugetieren, sowie im Verdauungstraktus des Menschen, einiger Fische und anderer Kaltblütler aufdeckte. Mit der Fragestellung nach ihrer Pathogenität spielte sich diese Bakteriengruppe in den Vordergrund allgemeinen Interesses. So stellte P e l t r e t (1932) Infektionsversuche mit Sporenbildnern an, an Hand derer er jedoch keine verzögerte Wundheilung feststellte. K u r z w e i l (1956) gelang es zwar, bei Kaninchen durch intravenöse Injektion hochthermophiler Erds sporen in mineralischen Nährlösungen eine kurze Fieberreaktion hervorzurufen, er bestätigte jedoch die Apathogenität der Keime, da die Tiere trotz Fieberreaktion, nach deren Abklingen, gesund blieben. Biologisch ist die Resistenz der Sporen dieser thermophilen Bakterien höchst interessant, eine Bedeutung für die medizinische Entkeimung kommt ihr jedoch nicht zu (K o n r i c h - S t u t z, 1963; S t u t z, 1963).

Daß Sporen tatsächlich die resistentesten Formen des Lebens sind, belegen die verschiedensten Versuchsreihen, durchgeführt mit Viren, unversporten Bakterien und Sporen. Man kann dementsprechend folgern, daß dann alles Leben vernichtet ist, wenn Sporen ihre Fähigkeit zum Auskeimen verloren haben, also abgetötet sind. Sporenerde genügt damit der Forderung, welche man als Kriterium an ein Testobjekt einer Prüfmethode für Autoklaven stellt, daß sie die Sichtbarmachung eines biologischen Effektes erlaubt.

Wie oben schon angeführt, zeichnet sich das Sterilisationsverfahren mit Hilfe von gespanntem Dampf durch schnellste Entfaltung der Wirksamkeit und größte Tiefenwirkung aus. Die zu seiner Anwendung erforderlichen Dampfdruckkessel (Autoklaven) benötigen zu ihrer Betriebssicherheit der Berücksichtigung bestimmter technischer Daten. So bestehen, durch verschiedene physikalische

Gesetze dargelegt, gewisse Relationen zwischen der Temperatur und dem Druck des Wasserdampfes. Der Autoklav braucht, um seine volle Wirksamkeit bereitstellen zu können und Fehler durch uneinheitlichen Sterilisationseffekt bei gleichbleibender Arbeitszeit auszuschließen, gesättigten Wasserdampf, also einen mit seiner Flüssigkeit in einem dynamischen Gleichgewicht befindlichen Dampf (H ö f l i n g, 1956) von bestimmter Temperatur und entsprechendem Druck. Die Tatsache, daß gespannter Wasserdampf gesättigt oder ungesättigt (überhitzt) sein kann, hat ihre große Bedeutung darin, daß gesättigter Wasserdampf eine größere Wirksamkeit entfaltet als ungesättigter (v. E s m a r c h, 1888; B u d d e, 1889; R o h r b e c k, 1893). Neben der Anwendung von gesättigtem Wasserdampf sind für die Betriebssicherheit eines Autoklaven noch die genaue Beachtung des zeitlichen Ablaufs der Dampfsterilisation (D I N 58946 Entwurf, 1966) von größter Wichtigkeit. Da es von der Beschickung des Autoklaven weitgehend abhängt, zu welchem Zeitpunkt die eigentliche Abtötungszeit einsetzt, ist ein entsprechend weitgreifender Sicherheitszuschlag unbedingt erforderlich, die genaue Befolgung der jeweiligen Betriebsanleitung unumgänglich.

Eine Absterbeordnung der nativen Erdsproren in gesättigtem, luftfreiem Dampf verschiedener Spannung konnte auf Grund der Abhängigkeit der Tötungskraft des Dampfes von Temperatur und Druck an Hand zahlreicher Versuche aufgestellt werden. Diese Absterbeordnung zeigt, daß mit steigendem Druck und entsprechend steigender Temperatur die Tötungskraft des Dampfes zunächst langsam, dann jedoch immer schneller zunimmt (K o n r i c h - S t u t z, 1963).

v. E s m a r c h (1887) erkannte als erster die Bedeutung der Luft im Autoklaven, als er an Hand seiner Versuche mit dem Henneberg'schen Desinfector, der mit strömendem Dampf arbeitet, die verzögerte Durchwärmung lufthaltigen, porösen Gutes aufzeigte, was von H e y d e n r e i c h (1887), D u n c k e r (1893), R o h r b e c k (1893) und

R u b n e r (1899) bestätigt wurde. E y e r (1964) stellt fest, daß mit der Beseitigung der Luftinseln aus dem Gut. der Sterilisationseffekt steht und fällt. Diese Luftinseln, die zwar die Temperatur des gespannten Dampfes langsam annehmen können, jedoch auch dann noch wesentlich weniger wirksam in Bezug auf Sterilisation sind, da es sich ja um trockene Hitze handelt, entgehen einem Nachweis durch physikalische oder chemische Methoden, die eben lediglich das Erreichen einer bestimmten Temperatur anzeigen. So ist es vonnöten, an ungünstigen Punkten des Autoklaven, sowie im Sterilisiergut, soweit möglich, den Sterilisationseffekt mit Hilfe einer biologischen Methode zu prüfen.

Auf der Suche nach amtlichen Vorschriften über Prüfungen von Entkeimungsanlagen findet man bei F e d e r - h e n (1952) nur eine amtliche Prüfung der Sterilisationsanlagen in nichtstaatlichen Krankenanstalten durch den Amtsarzt. Die große Zahl der in staatlichen Krankenhäusern sowie ärztlicher und zahnärztlicher Praxis sich befindenden Sterilisationsapparate unterliegen demnach überhaupt keiner amtlichen Kontrolle. K o n r i c h - S t u t z (1963) gibt zu bedenken, daß fachmännische Prüfungen wohl immer erst dann veranlaßt werden, wenn Versagen oder falsche Bedienung einer Entkeimungsanlage zu Zwischenfällen (S t u t z, 1947 und 1963) geführt haben.

Die zuverlässige Bedienung und Beurteilung eines Autoklaven erreicht man nur durch einwandfreie Kontrollen. Welche Prüfungsmethoden stehen uns nun dabei zur Verfügung? Geeichte Thermometer und Manometer, die sich gegenseitig in ihrer Anwendung ergänzen, finden neben Maximalthermometern Verwendung. Ferner gibt es zur routinemäßigen Kontrolle von Autoklaven Papierstreifen, zum Beispiel die "Timecard" der Propper MFG CO INC Long Island City N.Y., welche Testfelder besitzt, die eine ungefähre Einwirkungszeit der Temperatur von 121°C im Autoklaven anzeigen (P r z y b o r o w s k i - W ü r -

f e l, 1966). Außerdem sind Fettfarbstifte mit Umschlagfarben auf dem Markt (S e i f f e r t, 1941). S t i c h e r (1899 und 1901) gab Glasröhrchen zur Prüfung von Autoklaven an, die Substanzen mit verschiedenen Schmelzpunkten eingeschmolzen enthalten, welche das Erreichen einer bestimmten Temperatur durch Schmelzen der Substanz anzeigen. So fanden Phenanthren (Sp. 98°C) und Brenzkatechin (Sp. 104°C) (S t i c h e r, 1899), sowie Resorcin (Sp. 110°C) (S t i c h e r, 1901) Verwendung. Heute gibt es für sämtliche bei der Keimvernichtung durch Wärme vorkommenden Temperaturen entsprechende Schmelzsubstanzen.

Zu erwähnen wären noch Glasröhrchen, deren Inhalt bei Erreichen einer bestimmten Temperatur einen Farbumschlag zeigen.

Van M a r w y c k und R i e d e r e r (1961) geben eine Autoklaventrommel an, die es gestattet, Prüfgeräte ohne Öffnen der Trommel abzulesen.

Thermoelemente (H a i l e r und H e i c k e n, 1929; H a n n e, 1934 und L i e b e r m e i s t e r, 1962) und Klingelthermometer gestatten, in das Sterilisiergut, wie an ungünstige Stellen der Autoklaven gelegt, lediglich eine Überwachung der Temperatur. Wärmeschreiber zeichnen den Temperaturverlauf in der Dampfkammer auf.

Die vorgenannten Methoden sind sämtlich als indirekt zu bezeichnen. Ein sicherer Beweis, daß durch die erreichten Temperaturen tatsächlich Keime abgetötet werden, ist jedoch erst unter zusätzlicher Anwendung einer direkten Prüfungsmethode erbracht, wie sie die oben angeführte Kontrolle mit Hilfe der Sporenbriefchen darstellt. Von verschiedenen Seiten ist aber gegen die Verwendung von Gartenerde als Testmaterial Stellung genommen worden, da sie inhomogen und in ihrem Gehalt an resistenten Keimen starken Schwankungen ausgesetzt sei (S o b e r n h e i m und M ü n d e l, 1936; J e t t m a r, 1937). S o b e r n h e i m und M ü n d e l (1936) warfen ferner die Frage nach dem Bestehen einer unterschiedlichen biologischen

Wertigkeit bei nativen und Kultursporen auf. Kultursporen, aus einer Gartenerde von vielstündiger Dampfresistenz gezüchtet, deren Widerstandsfähigkeit gegen Dampf wesentlich geringer ist, als der sich in nativem Zustand in der Erde befindenden Sporen (C h r i s t e n , 1895), könnten nach Aufbringen auf geeignete Keimträger, wie Glasperlen oder Seidenfäden, den Prüfungen zugrundegelegt, eine Prüfungstechnik mit einheitlicheren und zuverlässigeren Ergebnissen möglich machen. Als Begründung für ihre Auffassung führen die Verfasser an, daß die wesentlich höhere Resistenz der Gartenerde auf den mechanischen Schutz der nativen Sporen durch Erdpartikelchen zurückzuführen sei. Somit würden biologische Differenzen bei der verschiedenen Kochresistenz von Gartenerde und Kultursporen keine, oder höchstens eine ganz untergeordnete Rolle spielen. Gleichzeitig lehnen die Verfasser die Gartenerde als ein "höchst ungleichmäßiges und ungeeignetes Testmaterial" ab, welches besser durch ein Testverfahren mit Hilfe von Kultursporen zu ersetzen wäre. Dennoch gaben M ü n d e l und K u h n (1941) einen "selbsttätigen biologischen Test für die Prüfung von Autoklaven" mit durch Gartenerde infizierten Glasperlen an. B l a u (1906) und E c k e l m a n n (1918) hatten schon gezeigt, daß genuine Sporen sich sehr resistent gegenüber Wasserdampf verhalten, während dieselben Sporen auf Kulturnährböden gezüchtet, eine starke Resistenzminderung aufwiesen. v. A n g e r e r (1939) untersuchte nun eine große Zahl von Adsorptionskörpern daraufhin, ob, den Ergebnissen von S o b e r n h e i m und M ü n d e l (1936) entsprechend, die an diese Körper adsorbierten Sporen eine Steigerung ihrer Resistenz erfahren. Von den unterschiedlichen, zur Anwendung gelangten Adsorptionskörpern verzögerte jedoch nur granulierende Kohle das Absterben erheblich. Diese Verzögerung wiederum war aber unabhängig von der Korngröße der Kohlesorten, was gegen eine Wirkung der geringeren Leitfähigkeit von Kohle sprach. Die Sobernheim - Mündel -

sche Theorie konnte im übrigen nicht bestätigt werden. Die Empfehlung, anstatt Sporenerde hochresistente Kultursporen zu verwenden, stieß auch anderweitig auf Ablehnung. So konnte S t ü h r k (1935) in Reinkulturen von hochresistenten Sporenbildnern, bei häufig wiederholter Überimpfung auf künstlichen Nährböden, eine signifikante Abnahme der Hitzeresistenz beobachten, welche bis zu 80% der ursprünglichen Widerstandsfähigkeit betragen konnte. O e s t e r l e (1938) fand, daß in gesättigtem Wasserdampf von 120°C die Abtötung der nativen Sporen von der Schichthöhe der getrockneten Gartenerde unabhängig ist. Die Auffassung, daß die Erde lediglich eine mechanische Schutzfunktion ausübe, ist also aus dem bisher dargelegten nicht zu halten. Auch J e t t m a r (1937 und 1938) erwähnt die schon von v. W a h l (1906) vertretene Ansicht, daß die Erde eben ein besonderes Milieu darstellt, das die Resistenz der Erdsporen maximal zu steigern vermag.

Auf einer ganz anderen Tatsache beruhen jedoch die Entdeckungen von S t ü h r k (1935) und S c h u l t z (1940), welche aufzeigen, daß die verminderte Resistenz der Kultursporen, bei Kultivierung dieser Sporen in Erde, wieder regenerierte. Auch ist es etwas anderes, wenn Mesentericussporen, wie O e s t e r l e (1937) zeigte, in erdhaltigem Nährboden eine höhere Widerstandsfähigkeit entwickeln als auf gewöhnlichen Nährböden. "Mit der Theorie, daß die hohe Hitzeresistenz der nativen Erdsporen lediglich durch die Schutzfunktion der anhaftenden Erdpartikel vorgetäuscht sei, ist die verschieden hohe Resistenz solcher Erdsporenarten und Erdsporenstämme nicht in Einklang zu bringen. Würde diese Theorie stimmen, so müßten alle Arten und Stämme in der gleichen Erde eine einigermaßen gleichmäßige Hitzeresistenz haben. Dies ist aber nicht der Fall " (K o n r i c h - S t u t z , 1963).

Während somit einer Prüfmethode auf der Basis der Sporenerde nichts mehr im Wege steht, es bis heute für die meisten Benutzer von Autoklaven, wie oben erwähnt, noch keine gesetzliche Verpflichtung zur regelmäßigen Kontrolle der sicheren Funktion ihres Gerätes gibt, und die bisher verfügbaren Kontrollmethoden indirekt oder zum Teil sehr aufwendig sind, war es unser Anliegen, ein einfach zu handhabendes und sicher abzulesendes Verfahren zu entwickeln, um damit einen Anreiz zur selbsttätigen Autoklavenkontrolle zu bieten.

Die vorliegende Arbeit hat nun zum Ziel, eine Methode zu finden, die es gestattet, Sporenerde und Nährlösung in einer einzigen Apparatur, bis zum Gebrauch sinnvoll getrennt, aufzubewahren und nach der Anwendung, ohne Zwischenschalten eines Laboratoriums an Hand einer zuverlässigen Indikatorreaktion, eine sichere Aussage über den Sterilisationseffekt des zu kontrollierenden Autoklaven erlaubt.

II. Eigene Untersuchungen und Ergebnisse

A. Material:

- a. Dextrosebouillon
(0,5%ig, 1%ig und 2%ig)
- b. 20 Stunden dampfresistente gedüngte Gartenerde aus einem Beet des Botanischen Gartens der Universität Tübingen, die im hiesigen Hygiene - Institut für Sterilitätskontrollen Verwendung findet
- c. Bromthymolblau als Indikator (2%ig)
- d. Agarplatten zur Sterilitätskontrolle

B. Methoden und Ergebnisse:

Aufbau und Erprobung einer geeigneten Laboratoriumsmethode als Grundlage für ein brauchbares Gerät zur Autoklavenprüfung, sowie die Entwicklung einer einfachen Apparatur zur praktischen Anwendung der Versuchsergebnisse, sollen in diesem Abschnitt der Arbeit in chronologischer Reihenfolge dargestellt werden.

Die zunächst durchgeführten Versuchsreihen, die auf einigen bestimmten Stoffwechselleistungen der Bakterien aufbauten, führten sämtlich zu keiner eindeutigen Indikatorreaktion. So wurden die Versuche über Bildung und Nachweis von Schwefelwasserstoff, Vorhandensein von Nitratreduktase und Nachweis von Nitrit mit Griess'schem Reagenz, sowie Bestimmung von Ammoniak mit Hilfe von Nessler's Reagenz verworfen und finden daher hier keine nähere Besprechung.

Der Verlauf der Untersuchungen gründete sich auf das bislang übliche biologische Verfahren der Sterilisatorenprüfung mit Hilfe von Sporenbriefchen und richtete sich speziell auf die Kontrolle von Autoklaven aus.

Als orientierende Voruntersuchungen wurden die Testung der zu verwendenden Sporenerde auf 20 Stunden Dampfresistenz und des Indikators auf seinen Umschlagbereich, sowie die Prüfung der Fähigkeit jener sich in der Sporenerde befindenden Keime, aus der Dextrose der Dextrosebouillon Säure zu bilden, durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß

- a. die in Frage kommenden Erdsproren 20 Stunden dampfresistent waren, da sämtliche der 10 getesteten Proben Bakterienwachstum aufwiesen, und
- b. die p_H - Veränderung der Bouillon ausreichte, um eine Indikatorreaktion hervorzurufen, und zwar dergestalt, daß Bromthymolblau von neutral = grün nach sauer = gelb, wiederum bei sämtlichen 10 Proben, umschlug.

Bei allen Voruntersuchungen, wie durchgeführten Versuchsreihen, kam der Kleinautoklav "Jeskolav J-2817" der Firma Aesculap, Tuttlingen, zur Anwendung. Die kurze Anheizzeit (je nach eingefüllter Wassermenge etwa 11 - 15 Minuten), die während dieser Zeit erfolgende automatische Luftaustreibung (über ein bestimmtes Strömungsventil), sowie der genau gehaltene, bei Erreichen der Sterilisierbereitschaft vorhandene Betriebsdruck (von 1 - 3 atü stufenlos einstellbar), machen diese Apparatur zu einem geeigneten Instrument für wissenschaftliche Untersuchungen. Der Druckausgleich in der Dampfkammer kann, nach beendeter Sterilisation, durch einen Dampfablaßhahn innerhalb einer Minute erreicht werden.

Weitere Vorversuche, durchgeführt mit dem vorgenannten Gerät, ergaben, daß nach 30 - minütigem Autoklavieren der Dextrosebouillon der p_H - Wert um etwa 0,4, von 7,0 auf 6,6 ,sank. Daraus war nun die Forderung nach einer primären p_H - Einstellung von etwa 7,4 berechtigt, da, wie im Folgenden noch zu beschreiben sein wird, für die Indikatorreaktion eine Ausgangslage von p_H 7,0 sehr zweckmäßig ist.

Eine der wichtigsten Voraussetzungen für das Gelingen der Methode ist, daß der resistenteste Keim in der Sporenerde Dextrose spaltet, und zwar in einer Menge, bei der die anfallende Säuerung zu einer Indikatorreaktion ausreicht.

Vor der Erläuterung der Versuchsanordnung mögen einige kurze Vorbemerkungen zum besseren Verständnis dienen.

Die Wirksamkeit eines Autoklaven setzt sich aus dem Produkt, einerseits der Temperatur des gespannten Dampfes bei bestimmtem Druck, unter der Voraussetzung, daß die Luft restlos entfernt ist, sowie der Zeitdauer seiner Einwirkung andererseits, zusammen.

Ein nicht vorschriftsmäßig funktionierender Apparat verändert das Produkt durch Änderung des ersten Faktors. Um die letzten überlebenden Keime in einer Erdprobe erfassen zu können, muß durch Abkürzung der Sterilisationszeit die Wirksamkeit des Autoklaven verschlechtert werden, da sich durch Variieren des ersten Faktors die bei unseren Versuchsbedingungen vorgeschriebene, stufenförmige Änderung des Produkts nicht erreichen läßt. Wir arbeiten aus diesem Grund, wie oben erwähnt, mit verschiedenen Werten des zweiten Faktors, der Dauer der Einwirkung des gespannten Dampfes. Somit wird ebenfalls eine Veränderung der Wirksamkeit herbeigeführt, und zwar eine genau kontrollierbare, stufenförmige.

Die Versuchsanordnung wurde zunächst wie folgt gewählt: In Reagenzgläser, die als Verschuß einen Zellstoffstopfen erhielten, wurde zu 20 ccm Dextrosebouillon von 0,5% und p_H 7,4 0,24 ccm Bromthymolblau gegeben und das Gemisch 45 Minuten im strömenden Dampf von $100^{\circ}C$ sterilisiert. Danach wurde die Mischung mit 0,3 g Sporenerde (das entspricht etwa einem Stuhlöffelchen voll) beschickt.

Die so vorbereiteten Reagenzgläser wurden dann jeweils 1, 2, 3, 4, bis 15 Minuten in einem Autoklaven vorgenannter Bauart, mit gespanntem Dampf von etwa $121^{\circ}C$ Temperatur und einem Druck von 1 atü, sterilisiert, danach zu gleichen Teilen aerob und anaerob (in Zeißler - Töpfen) 5 Tage lang im Brutschrank bei $37^{\circ}C$ bebrütet. Die Sterilitätskontrolle wurde anschließend mit Hilfe von Agarplatten durchgeführt, die ebenfalls, teils aerob, teils anaerob, bei entsprechenden Bedingungen bebrütet wurden. Die Ergebnisse der täglichen Kontrolle zeigt Tabelle 1.

Diese ersten Versuche ergaben, daß am 5. Kontrolltag Farbumschlag im Reagenzglas und Wachstum auf der Agarplatte übereinstimmten. Während der Bebrütungszeit änderte sich jedoch der Farbton der Mischung im Reagenz-

Zahl der Röhrchen bei Sterilisationszeit in Minuten

Tag der Bebrütung	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
2	F	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
3	F	2	2	1	2	1	3	2	1	1	2	3	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4	F	4	3	5	5	5	5	3	1	1	3	3	2	1	2	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
5	F	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	1	2	3	4	2	1	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 1 : 0,5% ige Dextrosebouillon. Tägliche Kontrolle der bebrüteten Röhrchen.
F = Farbumschlag im Röhrchen, W = Wachstum auf der Kontrollplatte
a = aerobe, b = anaerobe Bebrütung

In dieser, wie in sämtlichen folgenden Versuchsanordnungen, gelangten jeweils 5 Röhrchen zur aeroben, und 5 Röhrchen zur anaeroben Bebrütung, bei jeder der angegebenen Sterilisationszeiten.

glas auch bei denjenigen Proben, deren Inhalt sich später als steril erwies. Er wurde bräunlich-grün, anstatt dunkelgrün (= Angabe: steril) zu bleiben. Zwar konnte man nach einigen Versuchsreihen als etwas Geübter die Reaktion noch genau definieren, für eine Routinemethode jedoch, welche einfach zu handhaben sein soll, konnte diese Versuchsanordnung keine Grundlage bilden. Nachdem sich nun gezeigt hatte, daß die erwähnte Verfärbung während der Bebrütungszeit nur dann auftrat, wenn der Indikator schon vor der Sterilisation und Bebrütung zugegeben wurde, lag der Gedanke nahe, den Indikator erst nach der Bebrütung zuzusetzen. Sämtliche nun folgenden Versuchsreihen wurden nach dieser neuen Anordnung durchgeführt und bewiesen dadurch, daß sich die erwähnte Schwierigkeit nicht wiederholte, die Richtigkeit der Überlegung.

Bei der Kontrolle neuer Versuchsreihen ergab sich, daß alle Röhrchen, die nur 1 Minute, und ein Teil derer, die 2 Minuten autoklaviert worden waren, nach 15 - tägiger Bebrütung bei 37°C zwar stark bewachsen waren, was durch Überimpfen auf Agarplatten deutlich wurde, jedoch keinen Farbumschlag nach gelb aufwiesen (Tabelle 2).

Aus dieser Diskrepanz erhoben sich folgende Möglichkeiten:

1. Unsteriles Arbeiten
2. Eiweiß abbauende Keime überwiegen bei der kurzen Sterilisationszeit gegenüber den primär Dextrose spaltenden
3. Zu niedrig gewählte Zuckerkonzentration

Nachdem unsteriles Arbeiten bei der Durchführung der Versuche durch äußerst sorgfältiges Vorgehen bei Wiederholungsuntersuchungen ausgeschaltet worden war, wurde zunächst das Verhalten der Bouillon in denjenigen Reagenzgläsern, die 1 Minute und 2 Minuten sich im gespannten Dampf befunden hatten, zu verschiedenen Zeitpunkten während der Bebrütung beobachtet.

Zahl der Röhrrchen bei Sterilisationszeit in Minuten

Tag der Bebrütung	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
15	F	0	0	4	2	5	5	5	3	4	0	2	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	3	4	0	2	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	F	0	0	4	5	5	5	5	4	4	2	2	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	4	4	2	2	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	F	0	0	4	4	5	5	5	1	3	3	4	1	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	4	4	5	5	5	1	3	3	4	1	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
15	F	0	0	2	2	5	5	5	3	3	3	3	2	3	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3	3	2	3	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	F	0	0	2	2	5	5	5	4	4	2	4	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	W	5	5	5	5	5	5	5	4	4	2	4	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 2 : 15-tägige Bebrütung der Röhrrchen; 0,5%ige Dextrosebouillon.

F = Farbumschlag im Röhrrchen, W = Wachstum auf der Kontrollplatte;

a = aerobe, b = anaerobe Bebrütung.

Tag der Be- brütung	Farbe	Zahl der Röhrrchen bei			
		1 Min. Steri- lisationszeit		2 Min. Steri- lisationszeit	
		a	b	a	b
1	grün gelb	5 0	5 0	5 0	5 0
2	grün gelb	4 1	5 0	5 0	5 0
3	grün gelb	1 4	3 2	2 3	2 3
4	grün gelb	0 5	1 4	0 5	1 4
5	grün gelb	0 5	0 5	0 5	0 5
6	grün gelb	0 5	0 5	0 5	0 5
7	grün gelb	0 5	0 5	0 5	0 5
8	grün gelb	2 3	1 4	0 5	0 5
9	grün gelb	3 2	1 4	0 5	0 5
10	grün gelb	3 2	1 4	1 4	0 5
11	grün gelb	4 1	3 2	2 3	0 5
12	grün gelb	4 1	4 1	4 1	1 4
13	grün gelb	5 0	4 1	4 1	1 4
14	grün gelb	5 0	5 0	4 1	2 3
15	grün gelb	5 0	5 0	4 1	2 3

Tabelle 3 :

Tägliche Kontrolle der bebrüteten Röhrrchen;
0,5%ige Dextrosebouillon;
a = aerobe, b = anaerobe Bebrütung.

Nach dem 1., 2., 3.,... bis 15.Bebrütungstag wurden jeweils 0,24 ccm Bromthymolblau zu den verschiedenen Reagenzgläsern gegeben und die Farbe der Mischung kontrolliert. Dabei ergab sich folgendes Bild in Tabelle 3 (Seite 18).

Bei gleichbleibenden übrigen Versuchsbedingungen wurde nun die Dextrosekonzentration auf 1% erhöht. Siehe dazu Tabelle 4.

Tag der Be- brütung		Zahl der Röhrrchen bei			
		1 Min.Steri- lisationszeit		2 Min.Steri- lisationszeit	
		a	b	a	b
15	F W	4 5	4 5	5 5	4 5
15	F W	4 5	5 5	4 5	5 5
15	F W	3 5	5 5	5 5	5 5

Tabelle 4 : 15 - tägige Bebrütung der Röhrrchen;
1%ige Dextrosebouillon;
a = aerobe, b = anaerobe Bebrütung;
F = Farbumschlag im Röhrrchen,
W = Wachstum auf der Kontrollplatte.

Als sich hierbei wieder, wenn auch wesentlich seltener, das obengenannte Phänomen zeigte, entschlossen wir uns, die Zuckerkonzentration auf 2% heraufzusetzen. Damit war diese Erscheinung gebannt (Tabelle 4a).

		Zahl der Röhrchen bei			
Tag der Be- brütung		1 Min.Steri- lisationszeit		2 Min.Steri- lisationszeit	
		a	b	a	b
15	F W	5 5	5 4	5 5	5 5
15	F W	5 3	5 4	5 4	5 3
15	F W	5 4	5 3	5 4	5 5

Tabelle 4a : 2%ige Dextrosebouillon, sonst Legende wie bei Tabelle 4.

Wie aus Tabelle 4a weiter zu ersehen ist, trat bei dieser Zuckerkonzentration zwar in allen Röhrchen eine Gelbfärbung der Mischung ein, verschiedene wiesen jedoch bei der Sterilitätskontrolle auf der Agarplatte kein Wachstum auf. Wie Tabelle 5 zeigt, handelt es sich hierbei um baktericide Wirkung der Bouillon durch eine zu starke Säuerung, die von den beihalteten Bakterien selbst verursacht wird. Die Sterilitätskontrolle zeigt bis zu unterschiedlichen Bebrütungstagen ein Wachstum in den betreffenden Röhrchen an. Von da an ist kein Wachstum mehr nachweisbar. Diese neuerliche Erscheinung stört jedoch nicht die Verwertbarkeit der Methode.

Zahl der Röhrchen
bei

Tag der Be- brütung		1 Min. Steri- lisationszeit		2 Min. Steri- lisationszeit	
		a	b	a	b
1	F W	0 5	0 5	0 5	0 5
2	F W	1 5	0 5	0 5	0 5
3	F W	3 5	2 5	2 5	2 5
4	F W	5 5	4 5	4 5	4 5
5	F W	5 5	5 5	5 5	5 5
6	F W	5 5	5 5	5 5	5 5
7	F W	5 5	5 5	5 5	5 5
8	F W	5 4	5 4	5 4	5 5
9	F W	5 4	5 4	5 4	5 5
10	F W	5 4	5 4	5 4	5 4
11	F W	5 4	5 4	5 4	5 4
12	F W	5 3	5 4	5 4	5 4
13	F W	5 3	5 3	5 3	5 4
14	F W	5 3	5 3	5 3	5 4
15	F W	5 3	5 3	5 3	5 4

Tabelle 5 : Tägliche Kontrolle der bebrüteten Röhrchen.
2% ige Dextrosebouillon. a = aerobe,
b = anaerobe Bebrütung.
F = Farbumschlag im Röhrchen, W = Wachstum
auf der Kontrollplatte.

Die endgültige Versuchsanordnung sah nun folgendermaßen aus:

20 ccm Dextrosebouillon von 2% und pH 7,4 wurden 45 Minuten im strömenden Dampf von 100°C Temperatur sterilisiert, danach mit 0,3 g Sporenerde (1 Stuhllöffelchen voll) beschickt und im Autoklaven dann jeweils 1, 2, 3, 4, bis 15 Minuten mit gespanntem Dampf von 121°C Temperatur und einem Druck von 1 atü behandelt. Daran schloß sich eine teils aerobe, teils anaerobe (in Zeißler - Töpfen) Bebrütung im Brutschrank bei 37°C für 15 Tage an. Die folgende Kontrolle durch Überimpfen auf Agarplatten zeigte bei über 750 auf diese Weise durchgeführten Einzelversuchen, daß die letzten überlebenden Keime Dextrose in einer Menge spalten, welche zu einer für die Indikatorreaktion ausreichenden Säuerung führt (Tabelle 6).

Damit war diese Methode als Grundlage für ein einfaches Gerät zur biologischen Autoklavenprüfung geeignet. Diese Methode nun in eine in der Praxis leicht zu handhabende Apparatur zu übertragen, betraf den zweiten Teil der gestellten Aufgabe.

C. Entwicklung eines Gerätes:

Ausgehend von einer eventuell extrem hohen Anforderung an Lagerungs- und Transportfähigkeit, entstand ein Gerät aus einem Glasröhrchen, das in der Nähe seines Bodens eine Trennwand aus Glas erhielt. In den unteren, kleineren Teil wurde Sporenerde eingebracht, in den großen 2%ige Dextrosebouillon, welche ein Glasprojektil zur Zertrümmerung der Glastrennwand enthielt. Verschlossen wurde das Gerät zunächst mit einem Gummistopfen, der eine von innen ansetzende, nach außen nicht vollständig durchgeführte Bohrung enthielt. Die Halterung des Stopfens bestand aus einer Stahl - Spiralfeder. Siehe dazu Abbildung I.

Zahl der Röhrrchen bei Sterilisationszeit in Minuten

Zahl der Röhrchen bei Sterilisationszeit in Minuten																															
Tag der Bebrütung	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
15	F	5	5	5	5	5	5	5	2	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	W	3	3	4	5	5	2	1	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	F	5	5	5	5	5	4	4	3	4	1	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	W	5	4	5	5	5	4	4	2	3	1	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	F	5	5	5	5	5	5	5	3	3	2	2	2	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	W	3	4	3	3	3	4	5	2	3	2	2	2	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	F	5	5	5	5	5	5	3	2	3	1	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	W	0	2	2	3	4	3	3	0	2	1	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	F	5	5	5	5	5	5	5	3	4	2	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	W	2	2	0	3	2	3	4	3	3	2	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tabelle 6 : 15-tägige Bebrütung der Röhrrchen; 2%ige Dextrosebouillon.
 F = Farbumschlag im Röhrrchen, W = Wachstum auf der Kontrollplatte;
 a = aerobe, b = anaerobe Bebrütung.

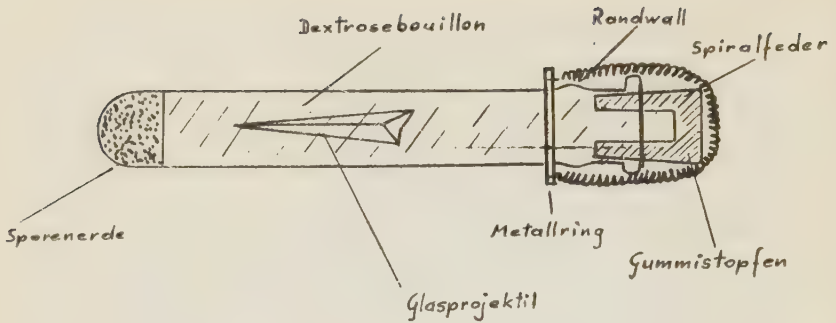
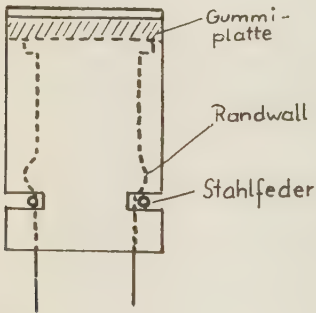


Abb. I

Seitenansicht:



Aufsicht:

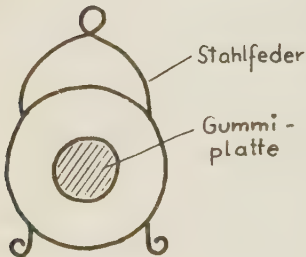


Abb. II

Bei den Versuchen mit diesem Gerät zeigte sich, daß der Verschluß durch den oben angegebenen Gummistopfen unzulänglich war. Der während der Anheizzeit den Autoklaven langsam durchströmende Dampf erzeugt im Gerät, durch Ausdehnung von Flüssigkeit und Luft, einen bestimmten Druck, durch den der Stopfen entweder herausgeschleudert wurde, oder, durch die Feder gehalten, zumindest verkantet. Die Lösung des Problems ergab sich aus der Überlegung, daß eine Gummiplatte auf einem geschliffenen Rand dann einen idealen Verschluß darstellen würde, wenn sie durch eine Metallhülse gehalten wurde. Die Metallhülse (siehe Abbildung II) wurde nun so konstruiert, daß sie von einer Feder, welche in zwei Einschnitten in der Hülse befestigt ist, während des Er-

hitzens am Randwall des Glasröhrchens gehalten wird. Die Luft kann nun durch Überwindung einer Teilkraft des Federdrucks ungehindert entweichen. Die Gummiplatte wird bei der Abkühlung wieder genau auf den geschliffenen Rand aufgesetzt und durch den nun voll wirksamen Federdruck, sowie das später sich ausbildende Vakuum, dicht gehalten. Um eine spätere Zugabe des Indikators mit Hilfe einer Injektionsspritze zu ermöglichen, wurde aus dem Metalldeckel der Hülse eine kleine Öffnung herausgebohrt.

Arbeitsweise des Gerätes:

Unmittelbar vor der Prüfung des zu kontrollierenden Autoklaven wird durch kräftiges Schütteln die Glastrennwand der Apparatur zertrümmert. Nun sind die beiden Räume miteinander verbunden, und die Sporenerde kann in die Dextrosebouillon gelangen. Nach dem Sterilisationsvorgang, der genau nach der Vorschrift des jeweiligen Autoklaven durchzuführen ist, wird das Prüfgerät für 15 Tage bei 37°C im Brutschrank gehalten. Daraufhin wird der Indikator, der sich in einer sterilen Einwegspritze befindet, durch die Gummiplatte, an der Stelle der Aussparung in der Metallhülse, in die bebrütete Bouillon gebracht, worauf die entsprechende Indikatorreaktion abgelesen werden kann. Wird die Bouillon durch den Indikator grün gefärbt, so ist dies ein Zeichen dafür, daß die Dextrose nicht gespalten wurde. Schlägt der Indikator hingegen nach gelb um, was sich bei der ohnehin schon dunkelgelben Bouillon als Nichtanfärben äußert, so wurde, infolge Bakterientätigkeit, Dextrose gespalten.

Angeregt durch die Konstruktion des Glasbehälters für das Präparat "Colifer" ^R der Asta-Werke, entstand der Vorschlag für ein weiteres Gerät, welches eine vereinfachtere Handhabung gegenüber dem ersten Typ aufweisen sollte.

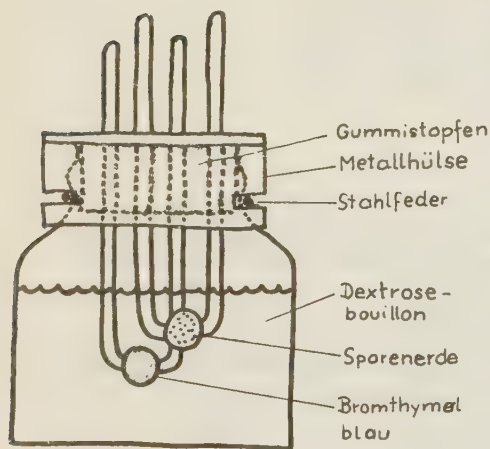
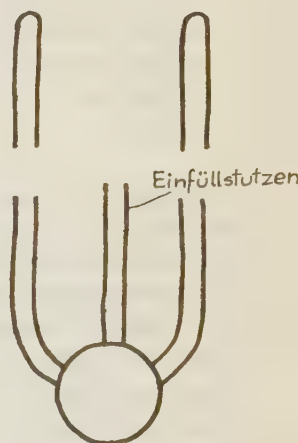


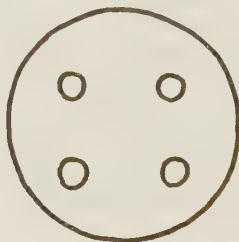
Abb.III



Substanzbehälter

Abb.IV

Als Verschuß der Öffnung des Glasbehälters ist ein mit vier Bohrungen versehener Gummistopfen, gehalten durch eine Metallhülse, die in ihrer Deckplatte ebenfalls vier entsprechende Bohrlöcher erhielt, vorgesehen.



Aufluß der Deckplatte

Abb.V

Durch zwei der vier Öffnungen des Stopfens wurden die beiden Schenkel einer Glaskonstruktion nach Abbildung IV gesteckt, deren Aufgabe es war, die als Testmaterial verwendete Sporenerde aufzunehmen. Die beiden Schenkel dieser kleinen Apparatur bestehen aus massivem Glas, zwischen denen sich am unteren Pol eine Glaskammer mit Einfüllstutzen befindet, die als Aufbewahrungsraum für die Sporenerde gedacht ist. Die restlichen zwei Bohrungen im Verschluß dienen zur Aufnahme derselben zweischenkligen Glasapparatur, deren Glaskammer nun aber mit 1 ccm 0,2%igem Bromthymolblau als Indikator gefüllt wurde. Nach Einfüllen der jeweiligen Materialien werden die dazu notwendigen Stutzen abgeschmolzen, sodaß Testmaterial wie Indikator von der Umgebung völlig abgeschlossen sind.

Das mit 20 ccm 2%iger steriler Dextrosebouillon von PH 7,4, sowie Sporenerde und Indikator beschickte, verschlossene Gerät ist gebrauchsfertig.

Arbeitsweise dieses Gerätes:

Unmittelbar vor der Testung des zu prüfenden Autoklaven wird durch Annähern der beiden freien Schenkel der Sporenkammer dieselbe zum Bersten gebracht und dem Testmaterial dadurch der Weg zur 2%igen Dextrosebouillon freigegeben. Nach dem Sterilisationsvorgang, der wiederum genau nach Vorschrift des jeweiligen Autoklaven durchzuführen ist, wird das Gerät ebenfalls 15 Tage bei 37° C im Brutschrank belassen. Danach gibt man den Indikator zur Flüssigkeit, indem man durch Annähern der freien Schenkel der Indikatorkammer dieselbe zum Bersten bringt. Die Indikatorreaktion ist, entsprechend derjenigen des oben beschriebenen ersten Gerätes, jetzt abzulesen.

III. Diskussion:

An Hand der dargelegten Versuchsreihen konnte gezeigt werden, daß sich mit Hilfe der von uns verwendeten Sporenerde, durch geeignete Umstellung der Versuchsbedingungen, eine zweckmäßige Laboratoriumsmethode zur biologischen Prüfung von Autoklaven erarbeiten ließ, welche, in die Praxis übertragen, die Entwicklung einer einwandfrei arbeitenden, einfachen Prüf-Apparatur ergab. Gleichzeitig konnte der Vorschlag zu einem weiteren, auf derselben Methode basierenden Gerät gemacht werden.

Beachtet man die Untersuchungen über die sogenannten hochthermoresistenten Sporenbildner (G e l i n s k y und L o c k e m a n n, 1950/51; K u r z w e i l 1943 und 1954; D o b b e r s t e i n, 1957) so steht fest, daß heute nirgendwo mehr dem D A B 6 (1959) gemäß sterilisiert wird, da eine Anwendung 134°Cigen Dampfes mehrere Stunden lang praktisch nicht durchführbar ist, und 145°C oder gar 150°C anzuwenden, weder die gebräuchlichen Apparaturen noch die Beanspruchbarkeit des Materials erlauben (A d a m, 1962). Eine Kontrolle der Sterilisation im Sinne der Forderung des D A B 6 (1959) ist mit dem vorliegenden Gerät nicht durchzuführen, weil thermophile Keime nicht mit erfaßt werden. Da aber einerseits diese thermophilen Keime bei der medizinischen Entkeimung keine Rolle spielen, (K o n r i c h - S t u t z, 1963), andererseits 20 Stunden dampfresistente gedüngte Gartenerde als Prüfkriterium anerkannt ist (A d a m, 1962), dürfte die angegebene Methode für Autoklaven in ihrer Standardisierung als genügend angesehen werden, um als sicher arbeitendes Gerät zur Autoklavenprüfung praktische Anwendung zu finden, sowohl für Apparaturen die mit gespanntem Dampf von 121°C, wie 134°C und 144°C arbeiten, was einem Druck von 1 atü bzw. 2 atü und 3 atü entspricht. Voraussetzung ist, daß zur Entfernung der Luft aus dem Dampfraum kein Vakuum verwendet wird.

Gegenüber den indirekten Prüfungsmethoden ist der Vorteil des von uns angegebenen Gerätes eindeutig. Die Angabe, daß eine bestimmte Temperatur erreicht wird, ist allein nicht ausreichend um einen Sterilisationseffekt zu gewährleisten. Außerdem ist unser Gerät der biologisch einwandfrei arbeitenden Methode mit Hilfe von Sporenbriefchen schon dadurch überlegen, daß mit ihm, ohne Inanspruchnahme eines Laboratoriums, an Ort und Stelle der Sterilisationseffekt kontrolliert werden kann.

IV. Zusammenfassung

Auf der Basis einer Laboratoriumsmethode mit Hilfe 2%iger Dextrosebouillon als Nährlösung, Bromthymolblau als Indikator und 20 Stunden dampfresistenter Sporen-erde als Testmaterial, wurde ein Gerät für die biologische Autoklavenprüfung entwickelt, das sich durch sichere Arbeitsweise empfiehlt. Einfache Bedienung, genaue Beurteilungsmöglichkeit der Ergebnisse und die Handlichkeit des Gerätes bilden den Wert seiner praktischen Anwendung.

V.Literatur

1. Adam, W.: Zur modernen Dampfsterilisation. Chirurg, 25, 258 (1954)
2. Adam, W.: Die Prüfung von Sterilisationsapparaten. Gesundheitswes. u. Desinfekt., 54, 65 (1962)
3. v. Angerer, R.: Untersuchungen über die Ursachen der Resistenz von Bazillensporen. Arch.Hyg., 121, 12 (1939)
4. Eischoff, H. und Wintgen, M.: Beiträge zur Conservenfabrikation. Z.Hyg., 34, 496 (1900)
5. Blau, O.: Über die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie der supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturminima. Zbl.Bakt. II, 15, 97 (1906)
6. Budde, V.: Die Bedeutung der Spannkraft, Temperatur und Bewegung des Dampfes bei Desinfektion in Dampfapparaten. Arch.Hyg., 9, 292 (1889)
7. Christen, Th.: Untersuchungen über die Dauer des Sterilisationsprozesses im gespannten Dampfe bei gegebenen fixen Temperaturen. Mitt.d.klin. u.med.Inst.Schweiz, III/2, 134 (1895)
8. DAB VI. 3. Nachtrag, 18, (1959), Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH Stuttgart
9. DIN - Blatt Entwurf 58946; Dampf- und Heißluftsterilisation, Begriffe (1966)
10. Dobberstein, H.: Sterilisations- und Kulturversuche mit hochthermoresistenter Sporenerde. Zbl.Bakt.I.Orig., 168, 625 (1957)
11. Duggar, B.M. and Hollaender, A.: The virus of typical tobacco mosaic and serratia marcescens as influenced by ultraviolet and visible light. J.Bact., 27, 219 (1934)

12. Duggar, B.M. and Hollaender, A.: Resistance to ultraviolet radiation of a plant virus as contrasted with vegetative and spore stages of certain bacteria. J.Bact., 27, 241 (1934)
13. Duncker, H.C.J.: Dampffeuhtigkeitsmesser und Probeobjekte in der Desinfektionspraxis. Gesd.Ing. (1893), 569
14. Eckelmann, E.: Über Bakterien, welche die fraktionierte Sterilisation lebend überdauern. Zbl.Bakt. II, 48, 140 (1918)
15. v.Esmarch, E.: Der Henneberg'sche Desinfector. Z.Hyg., 2, 342 (1887)
16. v.Esmarch, E.: Die desinficirende Wirkung des strömenden überhitzten Dampfes. Z.Hyg., 4, 197 (1888)
17. Eyer, H.: Grundsätze der praktischen Dampfsterilisation. Münch.Med.Wschr.106, 1532 (1964)
18. Federhen : Der Arzt des öffentlichen Gesundheitsdienstes 1952, 42. Georg Thieme Verlag Stuttgart.
19. Gärtner, K.: Zur unterschiedlichen Wirkung ultravioletter Strahlen auf grampositive und gramnegative Bakterien. Z.Hyg. 127, 273 (1948)
20. Gelinsky, E. und Lockemann, G.: Erfahrungen bei Sterilisationsversuchen mit sporenhaltiger Erde. Zbl.Bakt. I.Orig., 156, 305 (1950/51)
21. Globig : Ueber Bacterien - Wachsthum bei 50 bis 70°. Z.Hyg., 3, 294 (1888)
22. Globig : Über einen Kartoffel - Bacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. Z.Hyg., 3, 322 (1888)
23. Grainger jr., Th. H.: The effect of X - Rays on a strain of Eberthella typhosa. J.Bact. 53, 165 (1947)

24. Gunter, S. E. and Kohn H. I.: Effect of X - Rays on the survival of bacteria and yeast.
II. Relation of cell concentration and endogenous respiration to sensitivity. J.Hyg., 72, 422 (1956)
25. Hailer, E. und Heicken, K.: Die Prüfung von Laboratoriumsgeräten für die Wasserdampf- und Heißluftsterilisation. Zbl.Bakt.I.Orig., 114, 376 (1929)
26. Hanne, R.: Thermoelektrische Wärmemessungen mit dem "Dromotherm" und "Wärmegangmesser". Zbl.Bakt.I.Orig., 132, 245 (1934)
27. Harmsen, H. und Ostertag, H.: Über die sterilisierende Wirkung von primären Alkylhalogeniden. Zbl.Bakt.I.Orig., 156, 144 (1950/51)
28. Heicken, K. und Bellinger, H.: Die Sterilisation von Catgut mit gasförmigem Äthylenoxyd. Zbl.Bakt.I.Orig., 179, 113 (1960)
29. Heydenreich : Sterilisation mittels des Dampfkochtopfs (Papin'scher Topf) für bakteriologische Zwecke. Zbl.Bakt., 2, 513 (1887)
30. Höfling, O.: Lehrbuch der Physik. Ferd.Dümmlers Verlag Bonn (1956)
31. Jettmar, H.M.: Neuere Methoden der Prüfung von Desinfektions- und Sterilisationsanlagen. Zbl.Bakt.I.Ref., 125, 383 (1937) (Bericht)
32. v. Jettmar, H.M.: Über die sporozoiden Wirkung heißer Sodalösung. Arch.Hyg., 119, 223 (1938)
33. Koch, R., Gaffky und Löffler : Versuche über die Verwertbarkeit heißer Wasserdämpfe zu Desinfektionszwecken. Mitt.ksl.Gesd.amt Berlin, 1, 322 (1881)
34. Konrich, F. und Stutz, L.: Die bakterielle Keimtötung durch Wärme. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1963)

35. Kurzweil, H.: Über das Verhalten von nativen und Kultursporen im strömenden und gespannten Wasserdampf. Z.Hyg., 124, 1 (1943)
36. Kurzweil, H.: Über Erdsporen höchster Thermoresistenz. Z.Hyg., 140, 29 (1954)
37. Kurzweil, H.: Zur Frage der Pathogenität höchstthermoresistenter Erdsporenbildner. Arch.Hyg., 140, 208 (1956)
38. Lammers, Th., Day, H. und Seibel, M.: Neuartige Äthylenoxyd - Desinfektion bei Staphylokokkenhospitalismus. Z.Hyg., 146, 236 (1959/60)
39. Liebermeister, K.: Zur Prüfung von Dampf und Gassterilisatoren. Zbl.Bakt.I.Orig., 184, 181 (1962)
40. Luckiesh, M. and Knowles, Th.: Resistivity of Escherichia coli to ultraviolet energy (2537) as affected by irradiation of preceding cultures. J.Bact., 55, 369 (1948)
41. van Marwyck, C. und Rieder, W.: Ein verbesserter Sterilisierbehälter mit eingebautem Temperaturkontrollorgan. Chirurg 32, 211 (1961)
42. Mündel, O. und Kuhn, H.: Ein selbsttätiger biologischer Test für die Prüfung von Autoklaven. Zbl.Bakt.I.Orig., 147, 233 (1941)
43. Oesterle, P.: Über die Abhängigkeit des Sterilisationsergebnisse von den Eigenschaften des Testmaterials. Arch.Hyg., 117, 16 (1937)
44. Oesterle, P.: Über die Ursache der hohen Dampfresistenz der Sporenerde. Der Einfluß der Schichthöhe. Zbl.Bakt., I.Orig., 141, 187 (1938)
45. Peltret, H.: Können "apathogene" Luftsporen Wundinfektionen erzeugen oder begünstigen? Zbl.Bakt., I.Orig., 126, 465 (1932)

46. Peter, K.-H.: Kontinuierliche Sterilisation von Einweg-Geräten mit schnellen Elektronen. Sonderdruck aus Medizinal-Markt/Acta Medio-technika, 10, 462 und 512 (1962) Helios-Verlag GMBH Berlin Barsigwalde.
47. Przyborowski - Würfel : Leitfaden für die Sterilisationspraxis. Johann Ambrosius Barth. Leipzig (1966)
48. Rabinowitsch, L.: Ueber die thermophilen Bakterien. Z.Hyg., 20, 154 (1895)
49. Rentschler, H.C., Nagy, R. and Mouromseff, G.: Bactericidal effect of ultraviolet radiation. J.Bakt., 41, 745 (1941)
50. Rodenwaldt - Bader : Lehrbuch der Hygiene. Springer-Verlag Berlin - Göttingen - Heidelberg (1951)
51. Rohrbeck, H.: Zur Lösung der Frage der Desinfektion mit Wasserdampf. Dtsch.Med.Wschr., 15, 1027 (1889)
52. Rohrbeck, H.: Die für eine zuverlässige Desinfektion mit Wasserdampf notwendigen Bedingungen und die Vorzüge des Vacuum - Systems mit Kondensation und Druckdifferenzen. Gesd.Ing., (1893), 11 und 33
53. Rubner, M.: Zur Theorie der Dampfdesinfektion. Hyg.Rdsch., 8, 721 (1898) und 9, 321 (1899)
54. Salomonsen, C.J. und Levison, F.: Versuche mit verschiedenen Desinfektionsapparaten. Z.Hyg., 4, 94 (1888)
55. Schmidt, B., Möller, I. und Thiele, W.: Experimentelle Untersuchungen über die Desinfektion von Trinkwasser mit ultravioletten Strahlen. Z.Hyg., 139, 505 (1954)
56. Schultz, H.: Untersuchungen über die Sporentötungszeit bei Bodenbakterien als diagnostisches Merkmal. Zbl.Bakt., II., 102, 465 (1940)

57. Seiffert, G.: Eine einfache Methode zur laufenden Kontrolle von Sterilisationsapparaten usw. Münch.Med.Wschr., 88, 513 (1941)
58. Sobernheim, G. und Mündel, O.: Native und Kultursporen der Erdbakterien. Z.Hyg., 118, 328 (1936)
59. Sticher : Ein einfacher Kontrollapparat für Dampfsterilisieröfen. Zbl.Chir., 26, 1289, (1899)
60. Sticher : Zur Kontrolle unserer Dampfsterilisierapparate. Zbl.Gynäk., 25, 247 (1901)
61. Stührk, A.: Untersuchungen über die Sporentötungszeit bei Bodenbakterien im strömenden Dampf nebst botanischer Beschreibung einiger bei diesen Versuchen isolierter neuer Bakterienspezies. Zbl.Bakt.II., 93, 161 (1935)
62. Stutz, L.: Über Erfahrungen bei der Prüfung der Sterilisation. Med.Klin., 42, 800 (1947)
63. Stutz, L.: Die amtliche Prüfung der Entkeimungsanlagen in Krankenanstalten. Dtsch.Med.Wschr., 80, 792 (1955)
64. Stutz, L.: Richtige und falsche Sterilisationsmaßnahmen in Praxis und Krankenhaus. Med.Welt., 29, 1481 (1963)
65. Teuscher, H.: Beiträge zur Desinfektion mit Wasserdampf. Z.Hyg., 9, 492 (1890)
66. Thon, D. und Neumann, M.: Erfahrungen mit der Sterilisierung durch Äthylenoxyd. Zbl.Bakt.I. Orig., 176, 256 (1959)
67. von Wahl, C.: Ueber die Verderber von Gemüsekonserven. Zbl.Bakt.II., 16, 489 (1906)
68. Woese, C.: Further studies on the ionizing radiation of bacterial spores. J.Bact., 77, 38 (1959)

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn
Prof. Dr. med. Richard - Ernst Bader,
danke ich sehr herzlich für die Über-
lassung des Dissertationsthemas und
insbesondere für die großzügige Unter-
stützung sowie die wertvollen Ratschläge
während der Durchführung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch den stets hilfs-
bereiten Mitarbeitern des Hygiene Insti-
tuts der Universität Tübingen.

L e b e n s l a u f

Am 27. März 1939 wurde ich, Dieter Keil, als Sohn des Kaufmanns Heinrich Keil und seiner Ehefrau Karolina, geborene Wunderlich, in Esslingen/Neckar geboren.

Nach der Grundschule trat ich 1949 in das Schelztor - Gymnasium in Esslingen ein und bestand dort im Frühjahr 1958 das Abitur.

Im Sommer - Semester 1958 begann ich in Tübingen mit dem Studium der Biologie, wechselte jedoch noch im selben Semester zur Medizinischen Fakultät über. Bis zum Staatsexamen blieb ich am selben Hochschulort. Im Frühjahr 1961 bestand ich das Vorphysikum und im Herbst 1962 das Physikum. Das Medizinstudium beendete ich im Sommer 1966 mit dem Staatsexamen.

Seit September 1966 bin ich als Medizinalassistent am Hygiene - Institut der Universität Tübingen tätig.

